

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 2002-085095

(43)Date of publication of application : 26.03.2002

(51)Int.Cl.

C12Q 1/68
C12M 1/00
C12M 1/34
C12N 15/09
G01N 27/447
G01N 31/22
G01N 33/53
G01N 33/566
G01N 35/02
G01N 37/00

(21)Application number : 2000-271357

(71)Applicant : YOKOGAWA ELECTRIC CORP

(22)Date of filing : 07.09.2000

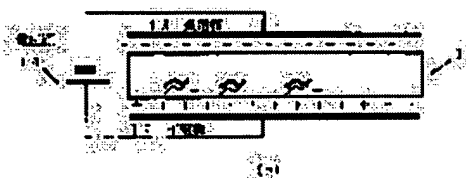
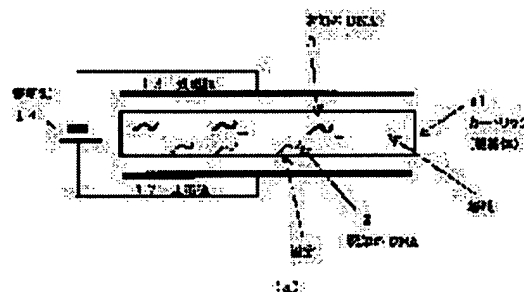
(72)Inventor : TANAAMI TAKEO

(54) APPARATUS FOR DETERMINATION OF GENE SEQUENCE OF BIOPOLYMER

(57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To provide an apparatus for the determination of the gene sequence of a biopolymer, producible at a low cost and having guaranteed high reliability by using a small-sized container.

SOLUTION: The apparatus for the determination of the gene sequence of a biopolymer determines the sequence of an electrified biopolymer by using hybridization technique. The apparatus is provided with a container containing the biopolymer and removable from the apparatus and an electrode electrically insulated from the container and applying electric field to the container.



LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

25.02.2005

[Date of sending the examiner's decision of

THIS PAGE BLANK (USPTO)

rejection]

[Kind of final disposal of application other than
the examiner's decision of rejection or
application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's
decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's
decision of rejection]

[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2003 Japan Patent Office

THIS PAGE BLANK (USPTO)

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開2002-85095

(P2002-85095A)

(43) 公開日 平成14年3月26日 (2002.3.26)

(51)Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	テーマコード*(参考)
C 1 2 Q 1/68		C 1 2 Q 1/68	Z 2 G 0 4 2
C 1 2 M 1/00		C 1 2 M 1/00	A 2 G 0 5 8
	1/34		B 4 B 0 2 4
C 1 2 N 15/09		G 0 1 N 31/22	1 2 1 P 4 B 0 2 9
G 0 1 N 27/447		33/53	M 4 B 0 6 3
審査請求 未請求 請求項の数 8 O L (全 5 頁) 最終頁に続く			

審査請求 未請求 請求項の数 8 O L (全 5 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2000-271357(P2000-271357)

(22) 出願日 平成12年9月7日 (2000.9.7)

(71) 出願人 000006507

横河電機株式会社

東京都武蔵野市中町2丁目9番32号

(72) 発明者 田名網 健雄

東京都武蔵野市中町2丁目9番32号 横河

電機株式会社内

Fターム(参考) 2G042 AA01 BD19 HA10

2G058 CC08 CC11 CC17 GA02

4B024 AA11 AA19 AA20 CA01 HA11

4B029 AA07 AA23 BB20 CC11 FA03

4B063 QA13 QQ42 QQ52 QQ79 QR32

QR35 QR48 QS33 QS34 QS39

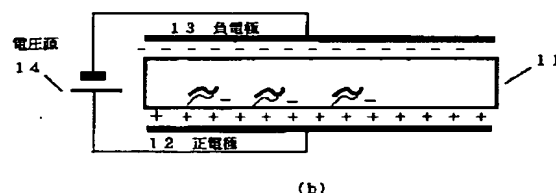
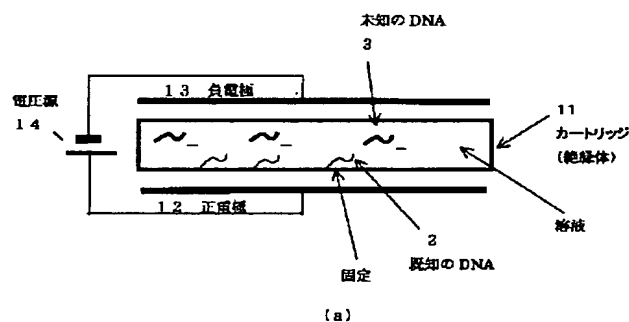
QX02

(54) 【発明の名称】 生体高分子の遺伝子配列を計測するための測定装置

(57) 【要約】

【課題】 小型容器を用い、安価で高信頼性の保証された、生体高分子の遺伝子配列を計測するための装置を提供する。

【解決手段】 荷電した生体高分子の配列をハイブリダイゼーションを用いて測定する生体高分子の遺伝子配列を計測するための測定装置において、生体高分子を含み測定装置から取り外しが可能に形成された容器と、この容器と電気的に絶縁され容器に電界を与えるための電極を備える。



【特許請求の範囲】

【請求項 1】 荷電した生体高分子の配列をハイブリダイゼーションを用いて測定する生体高分子の遺伝子配列を計測するための測定装置において、前記生体高分子を含み測定装置から取り外しが可能に形成された容器と、この容器と電氣的に絶縁され容器に電界を与えるための電極を備えたことを特徴とする生体高分子の遺伝子配列を計測するための測定装置。

【請求項 2】 前記電極に印加する電界方向を変化させる手段を備え、誤ったハイブリダイゼーションが剥離されるようにしたことを特徴とする請求項 1 記載の生体高分子の遺伝子配列を計測するための測定装置。

【請求項 3】 前記容器はフィルムにより形成されていることを特徴とする請求項 1 または 2 記載の生体高分子の遺伝子配列を計測するための測定装置。

【請求項 4】 前記電極は、容器内に設置された複数種類の生体高分子の集合サイトに対応した空間位置に凸部を設けたことを特徴とする請求項 1 または 2 または 3 記載の生体高分子の遺伝子配列を計測するための測定装置。

【請求項 5】 前記容器内の生体高分子の集合サイトに対応した位置に導電性の部材を設置したことを特徴とする請求項 1 または 2 または 3 または 4 記載の生体高分子の遺伝子配列を計測するための測定装置。

【請求項 6】 前記電極は容器と機械的に接触していることを特徴とする請求項 1 または 2 または 3 または 4 または 5 記載の生体高分子の遺伝子配列を計測するための測定装置。

【請求項 7】 前記電極が透明電極であることを特徴とする請求項 1 または 2 または 3 記載の生体高分子の遺伝子配列を計測するための測定装置。

【請求項 8】 前記透明電極が ITO 膜であることを特徴とする請求項 7 記載の生体高分子の遺伝子配列を計測するための測定装置。

【発明の詳細な説明】**【0001】**

【発明の属する技術分野】 本発明は、DNA や蛋白等の生体高分子の遺伝子配列を計測する装置に関するものである。

【0002】

【従来の技術】 特表平 11-512605 に記載のハイブリダイゼーション用の DNA チップは、基板上に多数の電極を設け、各電極に電流源を接続したものである。電極数は 100~10000 程度であり、一般に各電極には異なった DNA が固定される。

【0003】 このように既知の DNA が固定された基板上に未知の DNA を流してハイブリダイゼーションすることにより、対応する DNA 配列に未知の DNA を結合させることができる。未知の DNA 側に蛍光試薬を結合しておけば、既知の DNA と結合した未知の DNA 配列

を知ることができる。

【0004】 以下更に詳しく説明する。図 6 に示すように、既知の DNA 2 が固定化された電極 1 にプラスの電圧を印加する。DNA は負に帯電しているため、未知の DNA 3 は図 6 の (b) に示すように DNA 2 が固定化された電極 1 に引き寄せられる。これにより、数時間かかっていたハイブリダイゼーションは数十秒で完了する。

【0005】 また、図 7 (a) に示すように誤った配列で結合した場合は、その結合力が弱いため、ハイブリダイゼーションの後で逆に電極 1 に弱いマイナスの電圧を印加することにより図 7 の (b) に示すように外すことができる。これによって SNPs (1 塩基多型) のような 1 塩基の違いも高精度で測定することができる。

【0006】 このような DNA チップは、例えば検出系と組み合わせた流体系等と共にカートリッジに収められている。

【0007】

【発明が解決しようとする課題】 しかしながら、このような DNA チップには次のような課題があった。

(1) 一般にカートリッジは使い捨てであるが、そのカートリッジに多数の電極および電氣的接続端子を設置しなければならないため、カートリッジが高価格となる。また、対応する読取り機側にも、電極構造とその処理回路が必要であり、装置全体も高価となる。

(2) DNA チップとの電氣接続部は電極構造であり、接液する金属表面は電氣化学的ノイズやゆらぎを発生しやすい。また、読取り機側の端子との電氣的接触も不良を起こしやすい。

(3) カートリッジの電極およびその電氣取り出し端子が必要であり、カートリッジが大型となる。また読取り機も端子や電圧印加回路等が必要となる。

【0008】 本発明の目的は、上記の課題を解決するもので、小型の容器を用い、安価で高信頼性の保証された、生体高分子の遺伝子配列を計測するための装置を提供することにある。

【0009】

【課題を解決するための手段】 このような目的を達成するために、請求項 1 の発明では、荷電した生体高分子の配列をハイブリダイゼーションを用いて測定する生体高分子の遺伝子配列を計測するための測定装置において、前記生体高分子を含み測定装置から取り外しが可能に形成された容器と、この容器と電氣的に絶縁され容器に電界を与えるための電極を備えたことを特徴とする。

【0010】 このような構成によれば次のような効果が生じる。容器に電極から電界を与えると、浮遊している生体高分子が正電極側に引き寄せられ、ハイブリダイゼーションが高速化できる。容器には電極および電氣的接続端子が不要であるため安価であり、また対応する読取り機側には電極構造とその処理回路が 1 対で済むた

め、装置全体としても安価である。更に、容器には電極構造がないため電気化学的ノイズやゆらぎが発生しにくく、読み取り機側の端子との電気的接続不良も発生しない。また、容器の電極およびその電気取り出し端子が不要であり、容器は小型となり、読み取り機側も電極や電圧印加回路等が1対だけであるため小型となる。

【0011】この場合、請求項2のように、電極に印加する電界方向を変化させる手段を備えると、誤ったハイブリダイゼーションを容易に剥離することができる。

【0012】また、請求項3のように容器をフィルムにより形成することもできる。フィルムにするとサイトと電極を容易に近接させることができ、電場の位置を高精度化できる。またコストも安価になる。

【0013】また、電極は、請求項4のように、容器内の生体高分子の集合サイトに対応した空間位置に凸部を設けてもよい。集中的に電界強度を上げられるという効果がある。

【0014】また、請求項5のように、容器内の生体高分子の集合サイトに対応した位置に導電性の部材を設置してもよい。また、請求項6のように電極は容器と機械的に接触させてもよい。また、請求項7のように電極を透明電極としてもよく、更に透明電極は請求項8のようにITO膜で形成してもよい。

【0015】

【発明の実施の形態】以下図面を用いて本発明を詳しく説明する。図1は本発明に係る測定装置の一実施例を示す構成図である。図1(a)において、11は絶縁体で形成され、DNAを含む溶液が注入される容器（従来のカートリッジに対応するものであり、カートリッジと呼ぶ場合もある）、12は正電極、13は負電極である。電極12、13は容器11を挟むように設置される。なお、容器11、電極12、13は周知の機構によりそれぞれ保持されるが、その機構についての説明は省略してある。14は電極12、13に印加する電圧を発生する電圧源である。

【0016】容器11の内部には既知のDNAと未知のDNAが混入した溶液が密封状に充填されている。ただし、既知のDNAは容器11の壁面（図では下面）に固定化されている。電極12、13に電圧源14から電圧が印加されると、浮遊している未知のDNAは負に帯電しているため図1(b)に示すように正電極12側に引き寄せられて既知のDNAに接近する。それにより、ハイブリダイゼーションの高速化が可能となる。

【0017】ハイブリダイゼーションの後で電極の極性を逆転させると、誤ったハイブリダイゼーションを外すことができる。これによってSNPsのような1塩基の違いも高精度で測定することができる。

【0018】蛍光試薬の結合と観察は従来と同様に行うことができる。なお、外部電極12、13は容器11から移動可能な構造に形成しておくのが望ましい。ハイブ

リダイゼーション後に外部電極12、13を容器11から離すと、図2に示すように、対物レンズ21による観察が容易になる。

【0019】なお、本発明は、上記実施例に限定されることなく、その本質から逸脱しない範囲で更に多くの変更、変形をも含むものである。

【0020】例えば、正電極12は、図3に示すように各DNAのサイト（またはスポットとも言う）に対応した位置に、容器11側に伸びる凸部121を設けた構造であってもよい。このような形状を採用するとサイトに対し集中的に電界強度を上げることができる。

【0021】あるいは、図4に示すように、容器11の内壁のサイト位置に導電性の部材（導体）111を配置してもよい。既知のDNAは導体111の上面に固定化しておく。また、図3と図4を組み合わせた構造としてもよい。

【0022】更にまた、外部電極12、13は容器11と電気的に絶縁されていればよい。容器11をプラスチック等の絶縁体で構成するときは容器11に外部電極12、13を接触させても構わない。接触は両者の位置関係の安定化に有利である。

【0023】また、外部電極12、13としては、図5に示すようにITO膜のような透明電極を用いても構わない。透明電極にすると、蛍光観察の場合電極を移動しなくても観察可能になるという利点がある。

【0024】なお、蛍光測定は、ハイブリダイゼーション後に内部溶液を排出したドライ状態で測定しても構わない。更に、容器11は薄い膜状のフィルムでもよい。サイトと電極の間の距離が短くなるため、図3、図4の場合に電場の位置の精度を向上できる利点がある。

【0025】また、各サイトはDNAとして説明したが、これに限らずRNAあるいはPNA（Peptide Nucleic Acid）や荷電した蛋白でも構わない。

【0026】

【発明の効果】以上説明したように本発明によれば次のような効果がある。

(1) 容器に電極および電気的接続端子を設置しなくても良いため、容器が安価となる。また、対応する読み取り機側にも電極構造とその処理回路が1対だけで済むため装置のコストも安価となる。

【0027】(2) 電極構造がないため、電気化学的ノイズやゆらぎが発生しにくい。また、読み取り機側の端子との電気的接触も不良を生じない。

(3) 容器の電極およびその電気取り出し端子が不要であり、容器が小型になる。また、読み取り機も電極や電圧印加回路等が1対だけで済むため小型となる。

【図面の簡単な説明】

【図1】本発明に係る測定装置の一実施例を示す構成図である。

【図2】対物レンズでの観察時の説明図である。

【図 3】本発明の他の実施例を示す構成図である。

【図 4】本発明の更に他の実施例を示す構成図である。

【図 5】本発明の更に他の実施例を示す構成図である。

【図 6】DNA を電極に引き寄せる場合の説明図である。

【図 7】結合した DNA を剥がす場合の説明図である。

【符号の説明】

2 既知の DNA

3 未知の DNA

11 容器

12 正電極

13 負電極

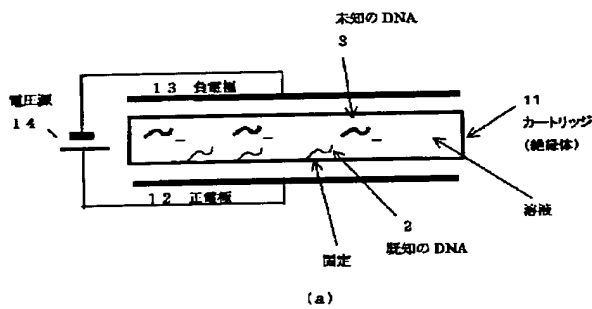
14 電圧源

21 対物レンズ

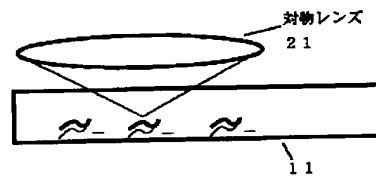
111 導体

121 凸部

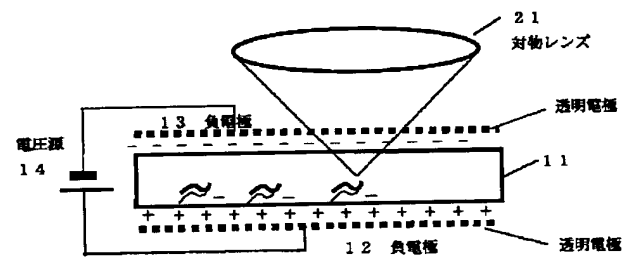
【図 1】



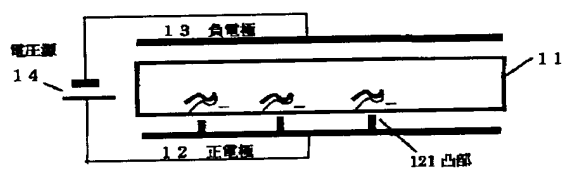
【図 2】



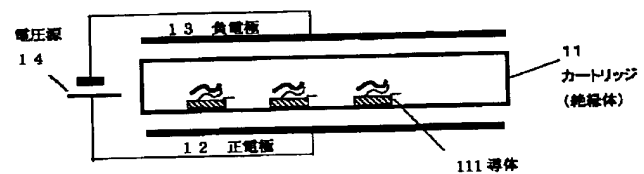
【図 5】



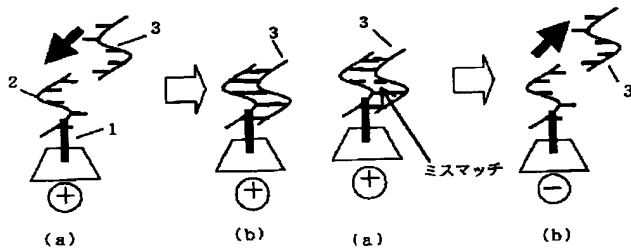
【図 3】



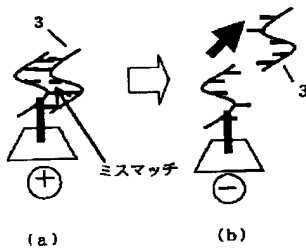
【図 4】



【図 6】



【図 7】



フロントページの続き

(51) Int. Cl. ⁷	識別記号	F I	テマコード (参考)
G 0 1 N 31/22	1 2 1	G 0 1 N 33/566	F
33/53		35/02	1 0 2
33/566		37/00	A
35/02		C 1 2 N 15/00	3 0 1 Z
37/00	1 0 2	G 0 1 N 27/26	3 3 1 K

THIS PAGE BLANK (USPTO)